



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

TRABAJO FIN DE GRADO

**NANOVEHICULOS PARA EL TRATAMIENTO DE
LA INFECCIÓN BACTERIANA II**

Autor:

Julia Saucedo Pereyra

Tutor: Montserrat Colilla Nieto

Convocatoria: Junio

RESUMEN

En los últimos años ha habido un aumento en el uso indebido, excesivo e incluso insuficiente de los medicamentos, teniendo consecuencias nocivas para la salud de las personas, además de un gasto innecesario en los recursos de la sanidad. El caso más frecuente es el uso indebido de los antibióticos, llegando a desarrollarse mecanismos de resistencia a los mismos. Por consecuencia, los antibióticos de primeras líneas no llegan a realizar su función, complicándose las infecciones y pudiendo llegar a ser letales. Por ello, la investigación actual se centra en la búsqueda de nuevas alternativas a la administración convencional de antibióticos y es aquí donde surge una nueva herramienta: la nanotecnología.

El tamaño de las partículas y estructuras de esta nueva vertiente permite vehicular los antibióticos a los tejidos y células diana de una manera más eficiente. Supone un gran avance en cuanto al tratamiento de las infecciones, donde podemos distinguir diferentes subtipos y estrategias terapéuticas.

En esta revisión se comentan y explican algunos de las nanopartículas y nanovehículos con más relevancia en el tratamiento de infecciones bacterianas.

ABSTRACT

The misuse, abuse or even insufficient use of drugs in recent years have led to harmful consequences in human health in addition to an expenditure in health resources. The most common case is the inappropriate use of antibiotics which has caused the development of mechanisms that trigger resistances to the drug. As a result, first-line antibiotics do not make their work, leading to complicated infections that can be lethal. Thus, research is focused on new alternatives and new approaches like nanotechnology which has experience a recent increase in popularity.

The size of the particles and structures used this field facilitates the access to the target and cells. It is an advance in the management of infections which can be divided into different subtypes and therapeutic approaches.

This revision overviews and explains some of the most relevant nanoparticles and nanovehicles used in treatment of bacterial infections.

1.INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

A pesar de los avances en Medicina hoy en día la resistencia a los antibióticos puede considerarse un problema de salud mundial, principalmente derivado del abuso de estos fármacos. La resistencia a los antibióticos afecta a todos los países, donde los pacientes con infecciones causadas por bacterias farmacorresistentes corren mayor riesgo de tener peores resultados clínicos. Además, consumen más recursos sanitarios que los infectados por cepas no resistentes de las mismas bacterias.¹ Como consecuencia la investigación médica se centra en la búsqueda de antibióticos mucho más potentes, y la búsqueda de nuevas alternativas, es aquí donde aparece la figura de la Nanomedicina.

La Nanotecnología y Nanociencia existen a partir de la creación de la física cuántica, donde se conoció el núcleo de los electrones y los fotones. La idea de utilizar estructuras atómicas construyendo átomos sobre átomos comenzó con el Dr. Richard Feynman en el año 1952, cuando anticipó conceptos que hoy son realidad en las actividades nanotecnológicas.²

Dentro de esta área, la Nanotecnología Farmacéutica se podría definir como el uso de la nanotecnología para la prevención, diagnóstico y tratamiento de enfermedades y heridas, así como para mejorar la salud y funcionamiento del organismo humano y de otros seres vivos³ Sus aplicaciones incluyen tanto el descubrimiento de nuevos agentes farmacéuticos, el desarrollo de sistemas de liberación de fármacos con localización o direccionamiento específico.

El desarrollo de esta nueva ventana requiere aumentar los conocimientos acerca del escalamiento de los procesos de manufactura y acerca de la caracterización de los materiales que permitan asegurar su reproducibilidad, un control de calidad efectivo y la eficiencia en los costes.³

El futuro de la nanotecnología farmacéutica incluye varias líneas de investigación entre las cuales se cuentan:

- Transportadores de fármacos y sistemas de liberación de genes, supramoleculares autoensamblables.
- Nanopartículas y nanocápsulas.
- Tecnologías de anticuerpos.
- Conjugados de polímero-fármaco.
- Conjugados de polímero-proteína y anticuerpo.
- Nanoprecipitados y nanocristales.
- Polimerización in situ.
- Tecnologías con dendrímeros.
- Reparación e ingeniería de los tejidos.
- Tecnologías de los liposomas.

Esta nueva rama, está teniendo gran aceptación, y se perfila como la de mayor proyección en un futuro próximo debido a sus importantes aplicaciones, especialmente diagnósticas y terapéuticas. Los importantes avances en este campo podrían dar lugar a sistemas de diagnósticos y de tratamiento mucho más eficaces y seguros a los ya existentes no solo en el campo de infecciones bacterianas, sino también en el cáncer. La posibilidad de trabajar con materiales de tamaño comprendido entre 1-100 nm, nos permite además contar con los cambios de las propiedades físicas y químicas. Dentro de este campo diferenciamos entre las nanopartículas con acción terapéutica por sí mismas, y las que actúan como nano-vehículos o nanotransportadores.

2. OBJETIVOS

1. Conocimiento actual sobre la resistencia a antibióticos desarrollada en los últimos años.
2. Conocer el porqué de la búsqueda de nuevas alternativas a los antibióticos ya presentes.
3. Nanopartículas con acción antibacteriana.
4. Nanovehículos transportadores de fármacos.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

Para alcanzar los objetivos propuestos en la presente memoria, el método de búsqueda bibliográfica empleado para la obtención de información de documentos válidos y relevantes ha sido a través de diferentes bases de datos: PubMed, OMS, y Google Académico.

La búsqueda se realizó en inglés y castellano, siendo de gran relevancia la información obtenida en el primer idioma debido a que la mayoría de artículos en éste área se encuentran publicados en este idioma.

Se introdujeron numerosos términos: “Resistencia microbiana”, “Nanoparticles target”, “Nanocarriers drug delivery”, “Silver nanopaticles”, “Silica nanoparticles”, “Nanovehículos”, “Nanovehículos y fármacos”, “Nanotechnology”, “Nanotechnolgy drug”, “Drug nanocarries”. De las publicaciones revisadas y seleccionadas, se han incluido también varias referencias que correspondían con fuentes primarias relevantes y artículos de revistas.

Tras la búsqueda, se han seleccionado las publicaciones mediante la aplicación de determinados criterios de inclusión y exclusión:

- Criterios de inclusión: abstract disponible y/o texto completo disponible, lengua española o inglesa, fecha de publicación en los últimos 15 años.
- Criterios de exclusión: abstract no disponible, revisiones previas a los últimos 15 años.

En el marco que se expone a continuación se mostrarán los principales hallazgos obtenidos tras la lectura crítica de la bibliografía consultada.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la actualidad la resistencia a los antimicrobianos es considerado un problema mundial de salud, alimentaría, y en desarrollo. Afecta tanto al tratamiento ambulatorio y hospitalario de las infecciones producidas por microorganismos. La resistencia bacteriana puede aparecer bien por la aparición de genes “nuevos”, diseminación de genes “viejos” a huéspedes nuevos (ej *Neisseria gonorrhoeae* resistente a la penicilina), por mutaciones en genes “viejos” que producen resistencia más potente, o bien por la aparición de bacterias oportunistas intrínsecamente resistentes. Hemos de aclarar que los antibióticos se obtienen a partir de microorganismos, por tanto, los mecanismos de resistencia siempre han formado parte de la evolución de las bacterias. Cada mecanismo de resistencia esta codificado por uno o varios genes, y estos

son transmitidos con facilidad entre cepas de la misma especie bacteriana.⁴ Cuando surge un mecanismo de resistencia, sea por mutación o por transferencia de genes, en una determinada cepa o especie bacteriana, es posible que este mismo mecanismo sea transferido a otros microorganismos mediante vías de comunicación genética. Así, la resistencia puede propagarse a un gran número de microorganismos con o sin importancia médica.

Los antibióticos son medicamentos utilizados para la prevención y tratamiento de infecciones bacterianas, y se ha de aclarar que no es el paciente/persona quien desarrolla la resistencia al antibiótico, sino la bacteria causante de infección.⁵ Esta resistencia está aumentando en todo el mundo a una gran velocidad, algunas enfermedades como la neumonía, tuberculosis, paludismo, etc. Son cada vez más difíciles de tratar debido a la pérdida de eficacia de los antibióticos. Esto supone un problema tanto a nivel del paciente como a nivel del sistema sanitario, ya que se aumenta el uso de medicamentos que no son de primera línea y es necesario el uso de fármacos más caros. Así mismo se ve aumentado el tiempo de tratamiento. Se está poniendo en peligro todos los avances de la medicina moderna ya que, si no contamos con antibióticos eficaces para tratar infecciones, los trasplantes de órganos, la quimioterapia y las intervenciones quirúrgicas se volverán más peligrosas.

La respuesta de la Organización Mundial de la Salud (O.M.S) en la lucha contra la resistencia a los antibióticos reviste alta prioridad. El plan de acción contiene 5 objetivos principales:

- Mejorar la sensibilización y los conocimientos en materia de resistencia a antimicrobianos.
- Reforzar la vigilancia y la investigación.
- Reducir la incidencia de las infecciones.
- Optimizar el uso de medicamentos antimicrobianos.
- Asegurar que se realicen inversiones sostenibles en la lucha contra la resistencia a los antimicrobianos.

La época de mayor auge en cuanto al descubrimiento de nuevos antibióticos está comprendida entre los años 50 y 70, pero en los últimos años la aparición de mejores fármacos no ha sido tan destacada. El consumo abusivo, y el uso indebido de los mismos favorece que la bacteria desarrolle mecanismos de resistencia. Algunas de las principales resistencias más preocupantes serían las de meticilina-*Staphiloccocus aureus* (MRSA) y la multi-resistencia (MDR) de *Mycobacterium tuberculosis*.⁶

Las bacterias patógenas han desarrollado la capacidad de alojarse en diferentes nichos de la célula huésped que les permitirían la supervivencia, así como resguardarse en células de mamíferos haciendo la infección latente o recurrente. La localización intracelular de las bacterias les permite un mayor porcentaje de supervivencia ya que cuentan con la protección de las defensas de la célula huésped. Las

β -lactama y aminoglicosidos tienen bajo poder de penetración hacia el interior celular, debido a su alta hidrosolubilidad. Por otro lado, las fluoroquinolonas y macrólidos difunden bien hacia el interior, pero tienen poca capacidad de retención en el interior celular. Además, la actividad de los antibióticos se ve comprometida por factores como el pH, inactivación enzimática, etc.

El tratamiento convencional con antibióticos tiene ciertas limitaciones, además del nuevo frente que se ha abierto respecto a la resistencia que han desarrollado gran número de bacterias hacia los fármacos más usados, sería que las pastillas o pomadas antibióticas se distribuyen de manera inespecífica por el cuerpo causando efectos secundarios, problemas de mala absorción o incluso la destrucción del fármaco.⁷ La baja concentración intracelular que se puede llegar a alcanzar no es lo suficientemente alta para ejercer un efecto terapéutico, y propicia más el desarrollo de la resistencia antibióticos. Se ha de tener en cuenta que altas dosis pueden llevar a efectos secundarios o incluso toxicidad, además de que el tratamiento convencional afecta también a las bacterias comensales que se encuentra en nuestro organismo, lo que acaba desencadenando diversas alteraciones. Esta sería otra de las razones por la que la encapsulación de los fármacos sería necesaria.

A pesar de que la búsqueda de nuevos antibióticos sigue siendo una de los principales objetivos, algunos investigadores se centran en contar con la ayuda de la nanotecnología para poder mejorar la terapéutica.

La nanotecnología es el estudio y fabricación de estructuras y dispositivos con al menos una dimensión en el rango de los 1-100 nanómetros. En esta escala la materia o materiales muestran características y aplicaciones nuevas a las ya tradicionales o conocidas. Considerando que los sistemas biológicos interactúan con su medio ambiente a través de moléculas y estructuras multimoleculares que operan en la nanoescala, es fácil comprender por qué la nanotecnología tiene tanto potencial en el área de la salud, en los productos farmacéuticos y en la biotecnología.³

La nanotecnología ha cambiado la perspectiva funcional de los materiales ofreciendo éstos una mejor funcionalidad debido principalmente a su tamaño nanométrico. El desarrollo y formulación de medicamentos es la aplicación de la nanotecnología para mejorar la eficacia de los fármacos en espacio y tiempo dentro del organismo. Los distintos materiales empleados como matrices de transporte y liberación ofrecen un perfil farmacocinético controlado, una posible administración dirigida hacia el órgano diana mediante el uso de materiales con afinidad hacia ciertos compuestos biológicos y una distribución enmascarada por las propiedades de la matriz que ofrecen protección al fármaco encapsulado contra su posible degradación, eliminación, incremento en el cruce a través de distintas barreras biológicas y reducción de toxicidad.⁸

En el campo de la medicina su uso esta no sólo extendido al tratamiento de infecciones bacterianas, sino también consideradas en el campo de la oncología, para el cáncer el combate a escala molecular permite detectar precozmente la enfermedad, identificar y atacar de forma más específica a las células cancerosas.⁹

Como se ha mencionado anteriormente el tamaño de las partículas y la distribución de tamaño son las características más importantes de las nanopartículas y pueden determinar el destino biológico, la toxicidad, la distribución in vivo y la capacidad de orientación de estos sistemas de suministro.¹⁰ La liberación de fármacos puede verse afectada por el tamaño de las partículas o moléculas involucradas. Por un lado, las partículas de pequeño tamaño tienen una mayor área superficie-volumen, esto favorece la absorción del fármaco con las moléculas del órgano diana, y por tanto una liberación más rápida del fármaco. Por otra parte, las de mayor tamaño tienen grandes núcleos, lo que permite una mayor cantidad de fármaco encapsulado por las partículas y hacen que la liberación sea más lenta.

4.1 BIODISTRIBUCIÓN DE LAS NANOESTRUCTURAS EN EL ORGANISMO

Debido a su tamaño menor de 100 nm, son capaces de atravesar barreras biológicas, de tal manera que son capaces de acceder a órganos, tejidos y células, en los cuales otras partículas de mayor tamaño no pueden acceder. Existen diferentes métodos de entrada:

- *Inyección*: los nanoelementos llegan directamente a la sangre, pudiendo ser distribuidos al resto del cuerpo.
- *Inhalación*: los nanoelementos son eliminados en los pulmones por la acción fagocítica de los macrófagos alveolares, mientras que los nanoelementos que consiguen permanecer en la zona son transportados a través de la sangre.
- *Ingestión*: las nanoestructuras son capaces de atravesar el estómago y son absorbidos en el intestino. La tasa de absorción depende de la tensión sanguínea y edad del paciente, y del tamaño, concentración y funcionalidad de los nanoelementos. La mayoría de los nanoelementos se depositan en el hígado, en el riñón y en el bazo, en menor concentración pueden ser localizados tan el cerebro, testículos, ovarios y placenta.
- A través de la piel: no son capaces de profundizar más allá de las capas superficiales.

4.2 MECANISMOS MEDIANTE LOS CUALES LAS NANOPARTÍCULAS COMBATEN LA RESISTENCIA MICROBIANA

Diferentes nanopartículas (NPs) utilizan múltiples mecanismos simultáneamente, incluyendo la liberación de óxido nítrico, quitosano conteniendo en NPs. Incluir múltiples fármacos antimicrobianos en la misma NP

es otra forma de evitar el desarrollo de resistencia. Estas NP sirven también para superar diferentes mecanismos de resistencia tales como, disminución de la captación, el aumento de canales que expulsan los fármacos de la célula bacteriana, la formación de biofilm, y la bacteria intracelular. Así pues, también son utilizadas como nano-vehículos que dirigen los antibióticos al foco de infección. De esta manera superaríamos mecanismos de resistencia con menores efectos adversos al poder utilizar una dosis reducida.

Al contar con diferentes mecanismos de acción frente a los microorganismos, hace que sea más difícil que la bacteria desarrolle mutaciones en múltiples genes para crear resistencia a los múltiples mecanismos de acción.

A- NPs que liberan óxido nítrico (NO): es uno de los tantos ejemplos que pueden ayudarnos a entender porque la presencia de diferentes mecanismos de acción hace más complicada la aparición de resistencias múltiples frente a los antibióticos. El NO ejerce su acción a través de los reactivos intermedios RNOS, tras la reacción de NO con O^{2-} . La cantidad de NO ha de ser aproximadamente mayor a 1nM para que la formación de estos intermedios sea lo suficientemente alta para tener actividad antimicrobiana.

- 1) Las especies reactivas de NO reaccionan con los residuos de aminoácido de las proteínas bacterianas (Cys, Met, Tyr, Phe, y Tryp) incluidas las de la membrana plasmática.
- 2) RNOS tiene acción directa sobre el ADN, incluyendo rotura de cadena, desaminación de la citosina, adenina, y guanina, aumenta la producción de H_2O_2 , e inhibe la activación de enzimas que reparan el ADN.
- 3) Cuando su concentración es suficientemente alta es capaz de entrelazarse con el Fe del grupo hemo, causando una disminución del mismo en la bacteria.
- 4) Inhibe metaloproteínas de zinc, de tal modo que inhibe la respiración celular.
- 5) Provoca la peroxidación de lípidos.

Debido a la exposición algunas bacterias son capaces de desarrollar ciertas enzimas protectoras frente al NO fisiológico, pero no son eficaces ante las grandes concentraciones a las que se expone con el NO presente en fármacos, como las nano-partículas de NO.

B- NPs de Quitosano: Se trata de un polímero natural derivado de la desacetilación de la quitina. Formado por residuos de N-acetil-glucosamina y glucosamina situados al azar. Cada uno de los grupos amino C2 desacetilados tienen un $pK_a=6,5$ por tanto, se cargan positivamente ante un pH menor de 6,5, como ocurre en las infecciones epidérmicas. Dicha carga positiva tiene un efecto antimicrobiano ya que interacciona con la carga negativa de las paredes y membranas celulares de las células bacterianas. Esto causa un cambio en la permeabilidad, daño osmótico, y un flujo del contenido celular hacia el exterior celular (iones y proteínas). El desarrollo de un mecanismo de

resistencia es bastante complicado, ya que la carga negativa de las células microbianas tiene tal avance evolutivo que es difícilmente revertido por la simple mutación de un solo gen.

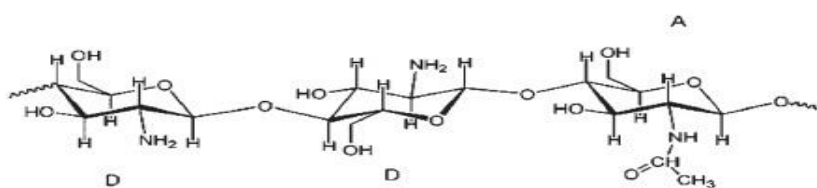


Figura 1: Esquema de quitosano

De esta misma página: Las nanopartículas formadas a partir de quitosano se forman a partir de un proceso denominado “bottom-up”, resultado de una auto-asociación o entrecruzamiento, donde las cadenas poliméricas se ordenan dando lugar a estructuras nanoscópicas mediante interacciones inter o intramoleculares de tipo covalente o no covalente. El fármaco puede quedar atrapado o ligado a la matriz polimérica sólida. Las metodologías de preparación de nanopartículas se muestran en la **Figura 2**.



Figura 2: Diferentes métodos de nanoencapsulación de quitosano

Otra de las variantes de nanopartículas de quitosano, es su combinación con ciclodextrinas (CDs). Las CDs son oligosacáridos cíclicos, producidos a partir de la amilosa y constituidos por 6, 7 u 8 unidades de D-glucosa articuladas por enlaces $\alpha(1\rightarrow4)$.¹¹ Estas nanopartículas presentan una serie de ventajas en las formulaciones farmacéuticas: protección frente a la degradación física, química y enzimática; estabilización y aumento de la solubilidad; control de la liberación; reducción de la irritación y enmascaramiento de sabores y olores desagradables. La administración de macromoléculas terapéuticas a través de mucosas ha sido investigada en estudios *in vitro* como *in vivo*.

Junto con el quitosano, el ácido hialurónico es el otro polisacárido principal que se ha considerado como base para el desarrollo de aplicaciones. El quitosano y el ácido hialurónico han sido asociados conjuntamente en nanopartículas híbridas co-gelificadas con el fin de mejorar las propiedades para el transporte de macromoléculas.

- C- Metales contenidos en NPs: los metales poseen múltiples mecanismos para eliminar o disminuir el crecimiento microbiano. De manera representativa hablaremos de nanopartículas de plata (Ag). Los iones de plata han sido utilizados tradicionalmente en la industria farmacéutica para su uso en fabricación de cremas frente a quemaduras e infecciones.¹² A partir de iones de Ag cargados positivamente en soluciones acuosas, estos iones interaccionan con grupos sulfato y fosfato de paredes y membranas bacterianas, como consecuencia se forman “roturas” en la membrana liberando así el contenido citoplasmático, que producen cambios en el pH, pudiendo causar así la muerte celular (actúan sobre la capacidad respiratoria). Es posible que las bacterias Gram negativas sean más susceptibles que las Gram positivas frente a los iones de Ag, debido a que las Gram negativa tienen una pared celular mucho más delgada, lo cual hace más fácil la entrada de dichos iones. Indistintamente tiene un gran amplio rango frente a bacterias gram positivas y gram negativas como por ejemplo: *E. Coli*, *S. aureus*, *P. Aspergillus*.

Uno de los compuestos de plata más utilizados en la actualidad es la sulfadiazina de plata (AgSD), aunque el nitrato de plata (AgNO_3) y otras sales como el acetato de plata tienen también grandes propiedades antimicrobianas. La plata forma parte del listado de medicamentos esenciales de la Organización Mundial de la Salud.¹²

Se ha de mencionar que la exposición prolongada a compuestos solubles que contienen plata puede producir una pigmentación irreversible en la piel y los ojos, además de otros efectos como daños en órganos, irritación, y cambios en el recuento de células sanguíneas. Por el contrario, la plata metálica parece plantear un riesgo mínimo para la salud, aunque hay ciertos estudios que exponen que se trata de un proceso dosis-dependiente.¹³

Las nanopartículas de plata se pueden sintetizar usando gran variedad de productos químicos y métodos físicos, que implican la reducción química, la reducción fotoquímica, la reducción electroquímica y la vaporización térmica. Estos procesos implican varios productos químicos tóxicos como agentes reductores, por lo que existe una necesidad de desarrollar procesos de biosíntesis ecológicos que impidan el uso de productos químicos tóxicos.¹⁴ Se ha recurrido a la utilización de plantas o extractos de las mismas para la biosíntesis de AgNPs. Diversos constituyentes químicos/fito-moléculas tienen tanto actividades protectoras como reductoras que son principalmente importantes para la reducción de iones de plata que adoptan compuestos naturales y complejos enzimáticos reductivos. Una de las plantas medicinales más conocidas es *Erythrina suberosa*.

Especie bacteriana	Efecto de las AgNPs
<i>Escherichia coli</i>	Alteración de la permeabilidad de la membrana plasmática y respiración celular
<i>Enterococcus faecalis</i>	Alteración de la pared celular y citoplasma
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Alteración de la membrana
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Alteración de la permeabilidad de la membrana plasmática y respiración celular
<i>Staphylococcus aureus</i>	Daño irreversible en las células bacterianas
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Inhibición de la replicación bacteriana del ADN, daño en las membranas bacterianas y modificación de los niveles intracelulares de ATP
<i>Salmonella typhi</i>	Inhibición de la replicación bacteriana del ADN, daño en las membranas bacterianas y modificación de los niveles intracelulares de ATP

Tabla 1. Efecto de AgNPs sobre algunas especies bacterianas

4.3 NANOPARTÍCULAS COMO NANOVEHÍCULOS

El uso por otro lado de NPs como vehículos de agentes antimicrobianos supone la puerta de entrada de una nueva y prometedora vertiente, ya que supone integrar un gran número de ventajas.

Pueden ser diseñados para ser activados por estímulos para llevar acabo la entrega dirigida, como sensores biológicos. Este sistema podría ser particularmente útil para tratar el absceso que es frecuentemente ácido y reduce la potencia de la terapia antimicrobiana convencional.⁹ Además, las nanopartículas pueden ser molecularmente adaptadas para mejorar sus propiedades, de tal manera que se reducen los efectos adversos en comparación a los producidos por los antibióticos tradicionales en cuanto a sistemas de administración. Se puede mejorar la solubilidad y estabilidad de agentes microbianos, así como lograr una liberación controlada del fármaco. Ya hay diversos estudios que demuestra la alta eficacia de agentes microbianos combinados con NPs frente a la administración unitaria del antimicrobiano.⁹

Algunas de las ventajas frente al tratamiento convencional con antibióticos serían:

- I. Liberación controlada y sostenida del fármaco en la zona diana de infección, aumentando la eficacia terapéutica del fármaco, minimizando el efecto secundario sistémico y disminuyendo la frecuencia de administración.
- II. El fármaco puede ser incorporado en el sistema sin reacciones químicas, preservando el fármaco.
- III. El perfil de liberación y degradación puede ser modificado a partir del tamaño de las nanopartículas, alcanzando cinéticas de orden cero y primer orden.
- IV. Aumento de la biodisponibilidad del fármaco en un sitio específico en la proporción adecuada durante un periodo prolongado.⁷

Según su mecanismo de acción los antibióticos pueden ser vehiculizados al lugar de acción de forma pasiva o activa. La orientación activa requiere del agente terapéutico y se logra mediante la conjugación de este o un sistema de soporte a un tejido o a un ligando de células específicas. La orientación pasiva se logra

mediante la incorporación del agente terapéutico a una macromolécula o nanopartícula que pasivamente alcanza e órgano diana.¹⁶

4.3.1 Formulaciones con nanoestructuras y liberación de fármacos

Las nano-partículas se emplean en cualquier tipo de formulación; desde las formulaciones sólidas hasta las líquidas, incluidos los aerosoles.

La liberación del fármaco depende, en cada caso específico, de la solubilidad del fármaco, su desorción si está unido a la superficie del portador, de la velocidad del hinchamiento a la matriz por el penetrante acuoso y de la velocidad de difusión del fármaco ocluido en una matriz hinchada y de la velocidad de degradación de la matriz si esta es degradable. Por tanto, la solubilidad, la difusión y la biodegradación de las partículas de la matriz o su velocidad de hinchamiento con agua rigen el proceso de liberación. Por otro lado, la velocidad de liberación también puede verse afectada por interacciones iónicas entre el fármaco y los aditivos de la formulación. Si el fármaco atrapado interactúa con los aditivos puede formarse un complejo soluble en agua, lo que puede retrasar la liberación del fármaco.⁹

4.3.2 Criterios para el diseño de nanovehículos eficientes

Ante todo, un vehículo seguro y farmacológicamente eficiente tiene que ser biocompatible y biodegradable, pero necesita también:

- Tener alta carga de fármaco para poder llegar a las concentraciones terapéuticas en los tejidos o células diana, permitiendo la administración sostenida.
- Evitar la liberación masiva y prematura del fármaco encapsulado antes de la llegada a la diana, evitando así efectos adversos en tejidos sanos.
- Ser inerte frente al contenido encapsulado, y proporcionar protección sobre posible degradación/metabolismo.
- Ser capaces de liberar el fármaco en el sitio correcto del cuerpo.⁶

4.3.3 Clasificación de las nanopartículas en función de su naturaleza

A) Nanopartículas de naturaleza orgánica

Liposomas

Son vesículas constituidas por una o más láminas biomoleculares de lípidos. En las bicapas, los fosfolípidos se disponen orientados con las cadenas hidrófobas situadas paralelamente entre sí y enfrentadas a las cadenas hidrófobas de la otra capa.¹⁶ Se forma una amplia zona hidrófoba, ya que todas las cabezas polares se hallan en ambos lados, lo cual forma una estructura concéntrica, alternando son compartimentos acuosos. Se ha de aclarar que su cavidad interna solo contiene agua o una solución acuosa de principio activo a diferencia de las micelas.

Son biodegradables, no tóxicos, y pueden encapsular tanto fármacos hidrófobos e hidrófilos en su cavidad interna acuosa sin ninguna modificación química. Además, los liposomas pueden ser diseñados deliberadamente para poseer las propiedades distintivas tales como tiempo de circulación sistémica prolongada, especificidad de células diana, pH, sensibilidad ambiental y de temperatura reductora, que se consiguen seleccionando la composición lipídica y la modificación de superficie adecuadas para los liposomas.

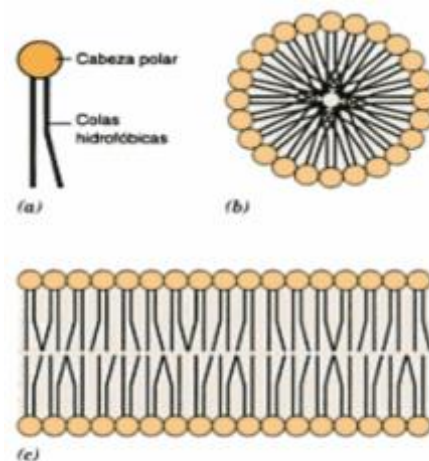


Figura 3. Esquema Liposoma

Se puede utilizar tanto lípidos sintéticos como naturales. A su vez, pueden clasificarse en vesículas multilaminares (MLVs), vesículas unilaminares grandes (LUVs), y pequeñas vesículas unilaminares (SUVs), todo en función de las capas y el diámetro.⁷ Los liposomas unilaminares sólo constan de una membrana lipídica, los SUVs oscilan entre los 25 y 50 nm de diámetro, mientras que los LUVs pueden alcanzar un tamaño entre 1,9 y 2,5 μm .¹⁷ El tamaño de los liposomas juega un papel importante en la capacidad de carga de fármaco, su velocidad de eliminación, así como en el mecanismo de eliminación. En general, una población heterogénea de liposomas se elimina en dos fases: primero una eliminación rápida y después una eliminación lenta. También puede caracterizar la liberación, así los liposomas de mayor tamaño liberan más lentamente los solutos solubles en agua que lo de menos diámetro.¹⁶

A la hora de su elaboración es importante establece un método de preparación que dé lugar a un tamaño de liposomas compatible con la acción terapéutica.

Los mecanismos de interacción con las células son: intercambio o transferencia de lípidos, adsorción, fusión, endocitosis.

El sistema mononuclear fagocítico constituye el sistema diana principal en la captación de liposomas. Constituye uno de los principales problemas cuando se pretende dirigir liposomas con antibióticos encapsulados hacia otros tipos de células no fagocíticas. Sin embargo, para aquellos microorganismos que utilizan el sistema mononuclear fagocítico para hospedarse, supondría una gran ventaja a la hora de su eliminación. Existen ejemplos tanto *in vitro* como *in vivo* donde los usos de liposomas tienen más ventajas que el uso tradicional de antibióticos.

Dendrímeros

El término “dendrímero” procede del griego “dendron” que significa “árbol” o “rama”, y el sufijo “mero”, que significa “segmento”. Otro nombre que reciben los dendrímeros es el de “arboroles”.

Los dendrímeros son nanovehículos poliméricos entre 2 y 10 nm de tamaño, con ramificaciones en número y posición estrictamente controladas.¹⁸

Se engloban dentro del nivel nanoscópico, son moléculas con estructura bien definida y con baja polidispersidad en comparación con los polímeros tradicionales. A nivel molecular, la estructura ramificada origina en general estructuras semiglobulares, la mayoría con una alta densidad de grupos funcionales en su superficie junto con un volumen molecular “pequeño”.

Presentan 3 componentes arquitectónicos distinguibles:

- Un core iniciador o núcleo
- Capas interiores, denominadas generaciones
- Grupos funcionales terminales

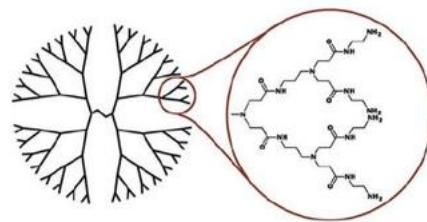


Figura 4. Imagen de un dendrímero

Cada componente arquitectural presenta una función específica, mientras que al mismo tiempo define propiedades para estas nano-estructuras. El núcleo puede ser considerado como el centro de información molecular del cual el tamaño, forma, direccionalidad y multiplicidad se expresan a través de la conectividad covalente a las capas exteriores. En el interior, se encuentra la región de amplificación de las ramas, que define el tipo y la cantidad de espacios vacíos interiores que pueden estar encerrados por los grupos terminales. La superficie se compone de grupos terminales reactivos o pasivos, que pueden realizar varias funciones, como por ejemplo como región de polimerización o como puertas pasivas o reactivas controlando la entrada o salida de moléculas huésped en el dendrímero.

La estructura dendrítica está caracterizada por “capas” entre cada punto focal llamadas “generaciones”. El núcleo es a veces considerado como “generación cero” (G0), ya que no presenta ningún punto focal.⁹

Se sintetizan en base a dos aproximaciones diferentes, síntesis divergente o convergente. En la aproximación divergente, el dendrímero es sintetizado desde el núcleo como punto de inicio y creciendo generación a generación hasta la superficie. Por el contrario, en la convergente desarrollada por Hawker y Frechet comienza desde la superficie y finaliza en el núcleo, donde los segmentos de dendrímero son acoplados todos juntos.

Como transportadores de fármacos, los dendrímeros de tipo PAMAM y PPI, con un gran peso molecular y superficies multivalentes, son macromoléculas con potencial aplicación en transporte de fármacos. La interacción con el fármaco puede tener lugar tanto en el interior del núcleo, o bien en la superficie multivalente externo del dendrímero. Durante el proceso de crecimiento del dendrímero, se encapsulan en su interior moléculas de diferente tamaño. Pueden soportar hasta 4 moléculas grandes y 8-10 pequeñas. Cuando

este dendrímero se trata con ácido fórmico, el almacén exterior se abre permitiendo la liberación de las moléculas hospedadas en su interior.

Una de las formas de direccionar los dendrímeros hacia las células deseadas es la de funcionalizarlos con ácido fólico, en el caso de dirigirse hacia tumores. Complejos PAMAM-plata que liberan esta última lentamente han demostrado actividad antibacteriana contra varias bacterias Gram-positivas.

Los fármacos basados en carbohidratos tienen un interés como anti-adhesinas microbianas, antagonistas de toxinas, o bien como antiinflamatorio, dado que los carbohidratos son una clase de moléculas importantes en el reconocimiento biológico. Las proteínas de unión a carbohidratos son denominadas lectinas, dichas interacciones han sido descritas en gran cantidad de casos del sistema inmune.

B) Nanopartículas de naturaleza inorgánica

Nanotubos de Carbono:

Desde su descubrimiento en los 90, han cobrado gran importancia debido a su estructura flexible y sus versátiles aplicaciones. Conocido en la nano-medicina como soportes de apoyo y como excipientes farmacéuticos para la creación de sistemas versátiles de suministro de fármacos.²⁰

Se trata de estructuras cilíndricas constituidas por átomos de carbono (hibridación sp^2) puros unidos de manera covalentemente de forma hexagonal.²² Se describen como cilindros huecos formados al enrollar una o varias capas de láminas de grafeno en cilindro.²¹



Figura 4. Nanotubo monocapa (SWNT)

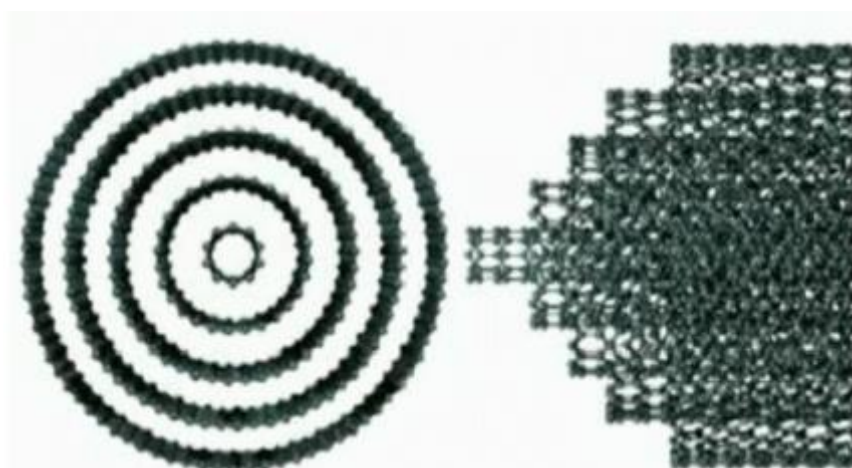


Figura 5. Nanotubo de múltiples capas (MWNT)

El grafeno es el único material constituido por una sola capa de átomos que puede ser sintetizado y estudiado en detalle. Es el objeto más bidimensional que existe. Sus propiedades electrónicas son inusuales y pueden modificarse externamente.²¹

Existen dos tipos de nanotubos de carbono, los nanotubos de carbono de pared simple (SWNT) o los nanotubos de carbono multicapa (MWNT). Los nanotubos de carbono de pared simple muestran mayor eficacia debido a su elevada estabilidad química y mejor funcionalidad.

La solubilidad de los nanotubos en disolventes acuosos favorece la biocompatibilidad. La solubilización de los mismos en disolventes acuosos sigue siendo un obstáculo como excipiente farmacéutico, debido al carácter hidrofóbico de las paredes laterales del grafeno, junto con las interacciones fuertes π - π entre tubos individuales, lo que hace que se asocien en agregados o paquetes.

Para dispersar correctamente a los nanotubos, el medio de dispersión debe ser capaz de humectar la superficie del tubo hidrófobo y modificar la superficie del tubo para disminuir la agregación. En la obtención de esta dispersión se han centrado en cuatro enfoques:

- Empleo de surfactantes
- Por disolventes
- Funcionalización de las paredes de los nanotubos
- Utilización de biomoléculas

Las técnicas que actualmente son empleadas para la preparación o síntesis de nanotubos de carbono son: descarga en arco, ablación láser y métodos de deposición de vapores químicos.

En general, están dotados de la eficacia necesaria para administración de fármacos, ya que pueden ser fácilmente internalizar en las células. Interactúan con macromoléculas, tales como proteínas y el DNA. Permiten una administración controlada y dirigida, como ya hemos mencionado se puede mejorar su solubilidad, además de su biocompatibilidad, lo que nos permite un uso de ellos más amplio.

Existen tres modos de interacción entre los nanotubos de carbono y los componentes activos de formulaciones farmacéuticas²⁰:

1. Como absorbentes porosos para atrapar componentes activos
2. Funcionalización de los nanotubos en forma de paquetes
3. Uso de los mismos como nanocatéteres.

Nanopartículas de sílice mesoporosa (MSNPs):

Gran variedad de grupos de investigación ha demostrado que los materiales de MSNPs pueden ser internalizados eficientemente por una variedad de células de mamíferos, incluyendo células cancerosas.²²

En los últimos años debido a sus propiedades físico-químicas como son su resistencia mecánica, estabilidad química, biocompatibilidad y versatilidad sintética ha sido uno de los principales focos de atención.

Sus principales características de estas nanopartículas son:

- Elevada área superficial que permite almacenar una gran cantidad de carga (35%).
- Elevado volumen de poro, gran porosidad y elevado orden de poro
- Tamaño de poro modificable con una estrecha distribución
- Buena estabilidad química y térmica.
- No tóxicas y biocompatibles con el organismo humano.
- Fácilmente modificables morfológicamente (control en tamaño, poro y forma)
- Fácilmente sintetizables
- Mesoestructura estable

Pueden ser sintetizadas fácilmente a gran escala presentando gran variedad de formas y superficies funcionalistas utilizando diferentes estrategias.

La superficie de una partícula es la principal forma de interacción con su entorno, de gran importancia en el caso de las nanopartículas. La superficie puede ser modificada para controlar dicha relación ambiente-partícula. En el caso de las MSNPs nos centraríamos en minimizar la opsonización creada por el sistema inmune, la asociación de una serie de proteínas plasmáticas llamadas opsoninas a la superficie de la partícula que conduce a la formación de la llamada corona proteica, que llevaría a una rápida eliminación del sistema. Uno de las vías para “ocultar” a las partículas sería añadir a su superficie externa polímeros hidrófilos, como ejemplo nombramos el polietilenglicol y derivados.²³

El material de sílice mesoporosa (tipo MCM-41) presenta una red de poros única compuesta por poros paralelos sin conexiones entre ellos. Gracias a este hecho es posible sintetizar sistemas de suministro de fármacos que presentan una “liberación prematura de cero” de los fármacos alojados, colocando en las salidas de poros diferentes restos orgánicos o inorgánicos que actúan como bloqueadores de poro o protectores de puerta. Estos transportadores en presencia de un estímulo interno o externo, activarán la liberación de los fármacos albergados consiguiendo un mejor control sobre la dosis administrada. En el caso de emplear estímulos internos presentan la ventaja de no requerir aparatos externos para activar la liberación, pero el control sobre la dosis administrada es menor que en caso del estímulo externo.

Dentro de los estímulos internos nos encontramos con: variaciones de pH de gran utilidad en diferentes patologías que sufren variaciones del mismo durante su evolución, reacciones redox debido a desequilibrios dentro y fuera de la célula, enzimas que intervienen en diferentes procesos, y acumulación de diferentes sustancias activas.

Por otro lado, los estímulos externos como la luz, la temperatura y sus variaciones, y la exposición frente a un campo magnético.

5. CONCLUSIÓN

Actualmente uno de los problemas más importantes en Medicina es la aparición de bacterias resistentes a los antibióticos. Por esta razón, hay grandes iniciativas para frenar las infecciones producidas por dichos microorganismos. La nanotecnología ofrece la capacidad de crear estructuras de origen orgánico como inorgánico, crear materiales con diferentes propiedades como tamaño, forma o carga, otorgando así una gran amplia gama de materiales con diferentes mecanismos de acción hacia las células diana. Debido a las diferentes propiedades que puedan tener estas estructuras, podemos distinguir en aquellas nanoestructuras que actúan como medicamento mientras que otras las utilizamos como transportadores capaces de depositar el fármaco de forma selectiva y precisa. Nos permite obtener un menor número efectos adversos, en comparación con el uso tradicional de antibióticos, así como una gran dificultad de que las bacterias desarrollen mecanismos de resistencia. Supone un gran avance en el campo de las infecciones, pero también en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades con gran incidencia como es el cáncer.

Por sus múltiples ventajas es una de las grandes esperanzas en la Medicina, y por ello merece el apoyo de la sociedad, empresas, donaciones, etc.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. OMS: Organización Mundial de la Salud [sede Web]. Madrid [acceso 15 de abril de 2017]. Resistencia a antibióticos. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/es/>
2. Quintili M. Nanociencia y Nanotecnología...un mundo pequeño. Scielo [Internet]. Diciembre 2012 [acceso 2 de Mayo de 2017]. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S1853-35232012000400010&script=sci_arttext
3. Villafuerte-Robles L. Nanotecnología Farmacéutica. Razón y Palabra [Revista Online] Enero 2009. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Leopoldo_Villafuerte/publication/40901762_Nanotecnologia_farmaceutica/links/55e0a0ea08aede0b572ed827/Nanotecnologia-farmaceutica.pdf
4. A.Forbes B. Diagnóstico Microbiológico [Internet] 12 Edición. Editorial médica Panamericana. [acceso 6 de abril de 2017]. Disponible en: https://books.google.es/books?id=239cauKqSt0C&pg=PA185&dq=resistencia+bacteriana&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjF2IO84ZnTAhXq7IMKHdz3B_UQ6AEIHDAA#v=onepage&q=resistencia%20bacteriana&f=false

5. Abed N, Couvreur P. Nanocarriers for antibiotics: A promising solution to treat intracellular bacterial infections. *Int J. Antimicrob. Agents*. 2014 (43) 485-496
6. Ranghar S, Sirohi P, Verma P, Agarwal V. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 2014. Vol (57) 209-222.
7. Leyva Gómez G. Nanopartículas de plata: tecnología para su obtención, caracterización y actividad biológica. *Medigraphic [revista online]* Abril 2013 [acceso 6 de Mayo de 2017] Vol (2) 18-22. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/invdiss/ir-2013/ir131c.pdf>
8. Portalcienza [sitio web]. Nanotecnología y medicina [acceso 19 de Abril de 2017] Disponible en: <http://www.portalcienza.net/nanotecnologia/nanomedicina.html>
9. Oropesa-Núñez R, Jáuregui-Haza UJ. Las nanopartículas como portadores de fármacos: características y perspectivas. *Revista CENIC Ciencias Biológicas [revista online]* Septiembre 2012 [acceso 8 de Mayo de 2017]. Vol (43) Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Reinier_Oropesa-Nunez/publication/236649980_Las_nanoparticulas_como_portadores_de_farmacos_caracteristicas_y_perspectivas_Nanoparticles_as_drug_carriers_characteristics_and_perspectives/links/02e7e518aa6c4c1653000000.pdf
10. González Fernández,S. Estudios de las aplicaciones biomédicas de nanopartículas de diversa naturaleza.[Trabajo fin de master] Departamento de biología funcional, Universidad de Oviedo. Junio 2016.
11. Goycoolea f, Remuñán-López C, Alonso MJ. Nanopartículas a base de polisacáridos: quitosano [monografía internet] Santiago de Compostela, Facultad de Farmacia. Disponible en: <http://www.analesranf.com/index.php/mono/article/viewFile/990/1024>
12. Ayla Núñez, N. Nanopartículas de plata como microbicidas: actividad y mecanismos de acción contra la infección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) y diferentes bacterias resistentes a antibióticos [monografía internet] Nueva León, Facultad de ciencias biológicas. Disponible en: <http://eprints.uanl.mx/2057/1/1080190951.pdf>
13. Pelgrift R, Friedman A. Nanotechnology as a therapeutic tool to combat microbial resistance. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2013. Vol (65) 1803-1815.
14. Yugal K M, K Panda S, Jayasalan R, Nanaocha S, K.Bastia A, K Mohata T. Antimicrobial, antioxidant and cytotoxic activity of silver nanoparticles synthesized by leaf extract of *Erythrina suberosa*. *PMC*. 2017. Vol (4). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5355429/>
15. Huh J, Kwon Young J. Nanoantibiotics: a new paradigm for treating infectious diseases using nanomaterials in the antibiotics resistant era. *Journal. Control. Rel.* 2011. Vol (156) 128-145

16. Clares Naveros, B. Sistemas de transporte y liberación de fármacos de aplicación tópica: liposomas multilaminares portadores de acetónido de triamcinolona [tesis doctoral] Granada, Facultad de Farmacia. 2013
17. Vitas A, Díaz R, Gamazo C. Liposomas. Aplicaciones en terapia antimicrobiana y en inmunoprofilaxis. Revista de Medicina de la Universidad de Navarra [internet] [acceso 27 de Abril de 2017] Disponible en: <http://www.unav.edu/publicaciones/revistas/index.php/revista-de-medicina/article/view/6925/6081>
18. Cabezas Cárdenas, J. Nanotransportadores poliméricos para el tratamiento de carcinomas hepáticos. [trabajo fin de grado] Madrid, Facultad de Farmacia. Junio 2016.
19. Carrasco Sánchez, V. Síntesis de Nanopartículas dendronizadas con capacidad de transporte y liberación de drogas [tesis doctoral] Talca, Universidad de Talca. Septiembre de 2012.
20. Yung-Sheng L, Ming-Yuan L, Chih-Hui Y, Keng-Shiang H. Active Targeted Drug delivery For Microbes Using Nano-carriers [monografía internet] PMC. Agosto de 2015 [acceso en 8 de Abril de 2017] 1525-1531 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4997950/>
21. González Carmona J, Hernández Vozmediano A, Guinea F. Investigación y ciencia [sitio web] septiembre 2012 [acceso 15 de mayo de 2017] Disponible en: <http://perso.ya.com/gonzalezc/ic.pdf>
22. Xiaoxing , S. Mesoporous silica nanoparticles for applications in drug delivery and catalysis. Iowa State University [sitio web] 2012. [acceso en 4 de Mayo de 2017] Disponible en: <http://lib.dr.iastate.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=3819&context=etd>
23. Baeza A, Colilla M and Vallet- Regí M. “Advances in mesoporous silica nanoparticles for targeted stimuli-responsive drug delivery”. Expert Opin. Drug Deliv. 2015. Vol (2) 319-37